

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek - Gent
RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ
Oostende
Directeur : P. HOVART

ONDERZOEK NAAR DE TOXICITEIT VAN EEN INDUSTRIEEL
AFVALPRODUKT, AFKOMSTIG VAN DE PRODUKTIE VAN
HYDRO YETHYL - CELLULOSE OP GARNALEN (CRANGON
CRANGON (L)), SCHOL (PLEURONECTES PLATESSA L.)
EN MOSSELEN (MYTILUS EDULIS L.)

M. BAETEMAN.

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek - Gent
RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ
Oostende
Directeur : P. HOVART

ONDERZOEK NAAR DE TOXICITEIT VAN EEN INDUSTRIEEL
AFVALPRODUKT, AFKOMSTIG VAN DE PRODUKTIE VAN
HYDRO YETHYL - CELLULOSE OP GARNALEN (CRANGON
CRANGON (L)), SCHOL (PLEURONECTES PLATESSA L.)
EN MOSSELEN (MYTILUS EDULIS L.)

M. BAETEMAN.

1. Inleiding.

De afvalprodukten die vrijkomen bij de produktie van hydroxyethylcellulose werden tot nog toe steeds aan land verbrand. Daar dit ernstige technische en economische problemen met zich meebrengt, wordt overwogen de afvalstroom in zee te lozen.

In die optiek werd een studie uitgevoerd met het doel de operationele voorwaarden die bij een eventuele dumping geëist worden, te kunnen vastleggen. Hiervoor was het noodzakelijk een evaluatie te maken van de toxiciteit van de afvalstof t.o.v. een aantal representatieve mariene organismen.

Het produkt heeft volgende chemische samenstelling (gegevens door de fabriek verstrekt) :

| | |
|---------------------------|-----------------|
| Na-acetaat | 28 % in gewicht |
| Water | 38 % in gewicht |
| Organische bestanddelen : | 34 % in gewicht |
| - Isopropylcellosdve | 2 % in gewicht |
| - Ethyleen glycol | 14 % in gewicht |
| - Diëthyleen glycol | 7 % in gewicht |
| - Triëthyleen glycol | 4 % in gewicht |
| - Andere glycolen | 2 % in gewicht |
| - Ethylcellulose | 5 % in gewicht |

Het gaat hier om een vloeibaar produkt, oplosbaar in zeewater, doch dat bij de gemiddelde zeewatertemperatuur van 10° C zeer visceus is en daardoor nog vrij moeilijk homogeen mengbaar is met water.

2. Materiaal en methoden (1)(3) en (4).

Hiervoor kan worden verwezen naar een vorig rapport (2).

Door de hoge viscositeit van het produkt bij de werkt temperatuur van 12° C, werden de testmedia eerst grondig geroerd, alvorens de organismen erin overgebracht werden, dit teneinde een volkomen homogeen mengsel te bekomen.

Bij de keuze van de testorganismen werd rekening gehouden met het representatief zijn voor het mariene ecosysteem van de Belgische kust, de gevoeligheid voor toxische effecten, het gemakkelijk houdbaar zijn onder laboratoriumomstandigheden en de beschikbaarheid gedurende gans het jaar.

Er werd gebruik gemaakt van 0-jarige schol (Pleuronectes platessa L.), van garnalen (Crangon crangon (L)) en van mosselen (Mytilus edulis L.), respectievelijk respresentatieve species voor platvissen, schaaldieren en weekdieren, d.w.z. organismen die in Belgische kustwateren veelvuldig voorkomen. Daarenboven zijn de eerste twee soorten van groot kommercieel belang. Mosselen worden niet gekweekt op kommerciële schaal langsheen de Belgische kust, doch het zijn uitstekende testdieren, omdat het "filterfeeders" zijn ; zij transporteren nl. aanzienlijke hoeveelheden water door hun kieuwen, niet alleen uit oogpunt van zuurstofopname, maar ook voor de opname van hun voedsel. Een mossel met een lengte van 5 à 6 cm, filtreert 60 tot 120 l water per dag, waardoor dit organisme zeer gevoelig is voor afvalstoffen aanwezig in het water, zelfs bij zeer lage concentraties. Daar de afvalstoffen aldus ook doorheen het spijsverteringsstelsel getransporteerd worden, kunnen bepaalde bestanddelen ervan in de weefsels akkumulieren. De hoeveelheden geakkumuleerd materiaal zijn evenredig met de respectievelijke concentraties in het omringende waterige milieu, waardoor mosselen niet alleen geschikt zijn als testorganismen, maar ook als monitoring-organismen.

De proefdieren werden in het sublittoraal gerekruteerd en moesten trapsgewijze aan de laboratoriumomstandigheden worden aangepast.

Gedurende de minstens twee weken durende adaptatieperiode werden garnalen gevoederd met visvlees en mosselvlees, platvissen en mosselen met plankton.

Tijdens de 96-uren-proeven werd geen voedsel toegediend ; wanneer het langer durende testen betrof, werd om de 2 dagen gevoederd. De etensresten werden in dat geval na 1 uur verwijderd.

In de loop van de experimenten werd het testmedium om de 48 uren vernieuwd om aldus een eventuele concentratiewijziging ten gevolge van verdamping, opname door de organismen, chemische degradatie enz. te voorkomen.

Voor de hoge concentraties om het uur, voor de lage concentraties om de 24 u, werden het aantal levende organismen genoteerd en de dode individuen verwijderd. Bij de garnalen werd hierbij rekening gehouden met het onderling kannibalisme van de dieren tijdens het verschalen.

Bij het uitvoeren van de toxiciteitsproeven werd gestart met een 24-uren durende "Screening-test". Aan de hand van deze test werd een grove schatting van de toxiciteit van het pollutant bekomen. In dit licht werd een tiendelige verdunningsreeks aangelegd. Volgende diluties werden gebruikt : 100.000 - 10.000 - 1.000 - 100 ppm.

Deze test werd enkel uitgevoerd op garnaal omdat dit de (vermoedelijk) meest gevoelige soort is. De percentages overlevenden na 24 uren en bij de verschillende concentraties van het pollutant, werden vervolgens in grafiek uitgezet.

Aan de hand van deze grafiek werd een grove benadering van de LC_{50}^{24} bekomen.

In de volgende fase van het toxiciteitsonderzoek werden de grenzen binnen dewelke zich de LC_{50}^{24} bevindt, opgesplitst in een halflogaritmische reeks. Hierna volgende verdunningsreeks werd aangewend : 180.000 - 100.000 - 56.000 - 32.000 - 18.000 - 10.000 - 0 ppm (180.000 ppm werd toegevoegd omdat 10.000 ppm niet altijd tot een ET_{50} -waarde kon leiden).

Naargelang het geval bleven de testen 96 uren of 28 dagen doorlopen. Voor elke concentratie werd het percentage overlevenden tegenover de tijd uitgezet. Hieruit kon de ET_{50} worden afgeleid. (median Effective Time) d.i. de tijd nodig opdat bij een bepaalde concentratie van het pollutant 50 % van de organismen nog in leven zouden zijn.

De bekomen ET_{50} 's werden in functie van de respektievelijke concentraties op semi-logaritmisch papier uitgezet. Op deze manier werd een distributiekurve bekomen voor de mortaliteit die typisch is voor de aard van het pollutant en waaruit de TL_m -waarde (median Lethal Threshold concentration) kan worden afgeleid, d.i. de maximale concentratie bij dewelke zich geen acuut-toxische effecten manifesteren.

De COD-waarde van de afvalstof werd bepaald met de dichromaat-reflux-methode.

De waarden voor opgeloste zuurstof in de testaquaria werden bepaald met de azide-modificatie van de Winkler methode.

3. Resultaten.

3.1. LC_{50} -proeven op Crangon crangon (L).

Aan de hand van de voorafgaandelijke LC_{50}^{24} -test konden de grenzen van toxiciteit worden bepaald (10.000 - 100.000 ppm) (figuur 1).

Vervolgens werd de volgende half-logaritmische reeks uitgetest in een LC_{50}^{96} -test :
180.000 - 100.000 - 56.000 - 32.000 - 18.000 - 10.000 - 0 ppm
(figuur 2).

De ET_{50} -waarden hieruit afgeleid zijn de volgende :

| | | | |
|-----------|---------------|---|--------|
| ET_{50} | (180.000 ppm) | = | 0u30' |
| ET_{50} | (100.000 ppm) | = | 1u00' |
| ET_{50} | (56.000 ppm) | = | 1u30' |
| ET_{50} | (32.000 ppm) | = | 5u30' |
| ET_{50} | (18.000 ppm) | = | 43u00' |

Bij 10.000 ppm kon nog geen ET_{50} -waarde worden afgeleid na 96 uren, doch anderzijds kon toch reeds een stijgende mortaliteit worden vastgesteld.

Daarom bleek het hier aangewezen deze concentratie uit te testen gedurende een langere periode ; de proef werd verder gezet gedurende 16 dagen (figuur 3). Hieruit kon worden afgeleid dat de ET_{50} (10.000 ppm) = 276u00'.

Al deze ET_{50} -waarden, in uren, werden vervolgens op semi-logaritmisch papier in functie van hun respectievelijke concentraties uitgezet. In figuur 4 kon een TL_m -waarde van 9.000 ppm uit de zogenaamde mortaliteits-distributiekurve, worden afgeleid.

Tabel 1 geeft de temperatuur, zuurtegraad, opgeloste zuurstof en zoutgehalte bij de resp. verdunningen.

Uit de tabel blijkt dat reeds vanaf 32.000 ppm de opgeloste zuurstof gevoelig verlaagt, waarschijnlijk tengevolge van de hoge COD-waarde van het afvalprodukt en dat ook de pH-waarde een lichte stijging ondergaat (alkalisch karakter van de afvalstof).

3.2. LC_{50} -proeven op Pleuronectes platessa L.

De hier gebruikte verdunningsreeks was analoog met deze gebruikt voor garnaal. De reeks 100.000 - 56.000 - 32.000 - 0 ppm werd uitgetest in een LC_{50}^{96} proef ; voor de concentratie van 18.000 ppm werd een LC_{50}^{28} -dagen-test opgezet.

De resultaten worden weergegeven in de figuren 5 en 6.

De ET_{50} -waarden hieruit afgeleid zijn de volgende :

| | | |
|-----------|---------------|-----------|
| ET_{50} | (100.000 ppm) | = 1u00' |
| ET_{50} | (56.000 ppm) | = 5u00' |
| ET_{50} | (32.000 ppm) | = 56u00' |
| ET_{50} | (18.000 ppm) | = 636u00' |

Deze ET_{50} -waarden uitgezet t.o.v. hun respectievelijke concentraties leidde tot een mortaliteitsdistributiekurve met een TL_m -waarde van 19.500 ppm. Tabel 2 geeft de temperatuur, zuurtegraad, opgeloste zuurstof en zoutgehalte bij de respectievelijke verdunningen.

3.3. LC_{50} -proeven op Mytilus edulis L.

Een analoge verdunningsreeks werd aangelegd als voor de eerste twee soorten. De concentraties 100.000 en 56.000 ppm konden uitgetest worden in een LC_{50}^{96} -test (figuur 8). Voor deze twee concentraties moet echter

opgemerkt worden dat de verkregen ET_{50} -waarden vervalst zijn door het feit dat de dieren zich volledig sluiten. Bivalven bezitten namelijk een natuurlijk afweermechanisme tegen een bedreiging van buiten uit zoals een pollutant. Zij kunnen hun schelpkleppen volledig sluiten, waardoor zij tijdelijk geen water meer filteren en dus ook geen invloed van het hen omringende pollutant meer ondergaan.

Door continue observatie van de mosselen tijdens de proef kon worden vastgesteld dat zij zich bij 100.000 en 56.000 ppm, slechts begonnen te ontsluiten na 20 uren. Zodoende mag aangenomen worden dat de bekomen ET_{50} -waarden grosso modo met 20 uren mogen gecorrigeerd worden :

$$ET'_{50} (100.000 \text{ ppm}) = 19u30'$$

$$ET'_{50} (56.000 \text{ ppm}) = 29u30'$$

Gecorrigeerde ET_{50} -waarden :

$$ET_{50} (100.000 \text{ ppm}) \quad 0u00'$$

$$ET_{50} (56.000 \text{ ppm}) \quad 10u00'$$

Voor 32.000 en 18.000 ppm moest een LC_{50}^{28} dagen-test worden opgezet (figuur 9).

Volgende ET_{50} -waarde konden aldus worden afgeleid :

$$ET_{50} (32.000 \text{ ppm}) = 192u00'$$

$$ET_{50} (18.000 \text{ ppm}) = 600u00'$$

Deze ET_{50} 's alsmede de gecorrigeerde ET_{50} 's uit de LC_{50}^{96} -test, uitgezet t.o.v. hun respektievelijke concentraties leidden tot de vermoedelijke mortaliteitsdistributiekurve waaruit een benaderde TL_m -waarde van 15.000 ppm kon worden bepaald. Temperatuur, zuurtegraad, opgeloste zuurstof en zoutgehalte, bij de respektievelijke verdunningen worden weergegeven in tabel 1.

4. Discussie en besluiten.

Het produkt had een pH van 12,6. Dilutie van het afvalprodukt met zeewater bij een concentratie van 18.000 ppm (zie tabellen 1 en 2) gaf een pH van 8,2 hetgeen een normale waarde voor de Noordzee mag worden genoemd. De saliniteit van de afvalstof als dusdanig bedroeg 2,6 ‰.

Voor een dilutie tot 18.000 ppm lag de waarde voor opgeloste zuurstof slechts bij 6,3 ppm, hetgeen overeenkomt met een verzadigingsgraad van slechts 64 %. Daarom werd het chemisch zuurstofverbruik van het produkt nagegaan : bij een verdunning tot 1.000 ppm bedroeg de COD-waarde 640 mg/l, hetgeen inderdaad zeer hoog mag genoemd worden.

Bij vergelijking van de resultaten bekomen met de drie organismen bleken de garnalen het gevoeligst te zijn t.o.v. de afvalstof.

De TL_m -waarden bedroegen respektievelijk :
voor Crangon crangon (L) : 9.000 ppm
voor Pleuronectes platessa L. : 19.500 ppm
voor Mytilus edulis L. : ca 15.000 ppm

Deze waarden liggen nog steeds binnen de aanvaardbare grenzen ; rekening houdend met een veiligheidsfactor 10, leidt dit tot een maximaal toelaatbare concentratie tijdens het lozen van 900 ppm op de dumpingsplaats zelf. Indien dit strikt wordt gevolgd mag aangenomen worden dat het betrokken afvalprodukt geen acuut toxische effecten op de mariene fauna zal hebben.

Om aan deze voorwaarde te kunnen voldoen, rekening houdend dat de minimum dilutie van 1111 in het schroefwater van het schip moet verzekerd worden binnen één minuut (vooropgestelde initiële dilutie), kunnen de aanvaardbare dumpingsvoorwaarden als volgt worden berekend :

$$C_D Q_D = 0,003 V^{1,4} \cdot L^{1,6} \cdot t^{0,4} C_P \quad *$$

waarin C_D = concentratie van de afval op het ogenblik van de lozing, waarbij bedacht moet worden dat de waarde C_D bepaald zal moeten worden door een aanvullend experiment over de diffusie van het materiaal in zeewater.

Q_D = hoeveelheid die mag geloosd worden per tijdseenheid (m^3/u)

V = snelheid van het schip

t = tijd binnen dewelke de initiële dilutie moet bereikt zijn (hier 60 sec.)

C_P = concentratie van de afval in het schroefwater op tijdstip "t" na de lozing

L = lengte van het schip

In dit voorbeeld bedraagt de dilutie C_D/C_P 1111 (de waarde uitgaande van de veronderstelling dat de zuivere afvalstof, zonder voorafgaandelijke menging met water, wordt geloosd).

Uit bovenstaande formule kan de toelaatbare hoeveelheid te lozen afvalstof per tijdseenheid (Q_D) berekend worden voor elk schip, teneinde de dilutie van 1111 binnen 1 minuut te kunnen bereiken.

Hierbij moet worden opgemerkt dat de berekening voor de toelaatbare concentratie aan afvalstof in het schroefwater enkel en alleen kan leiden tot een grote kans voor niet nefaste gevolgen, indien de nodige voorzorgen worden genomen opdat de gedumpte afval homogeen met het zeewater zou gemengd zijn op het ogenblik van de lozing.

* Formule afkomstig van de "Commission for the Protection of the Environment of IMCO" (5).

De mengbaarheid van de afvalstof met zeewater in diverse omstandigheden moet in een afzonderlijk experiment worden bepaald, teneinde gegevens te bekomen over de diffusie van het materiaal in zee.

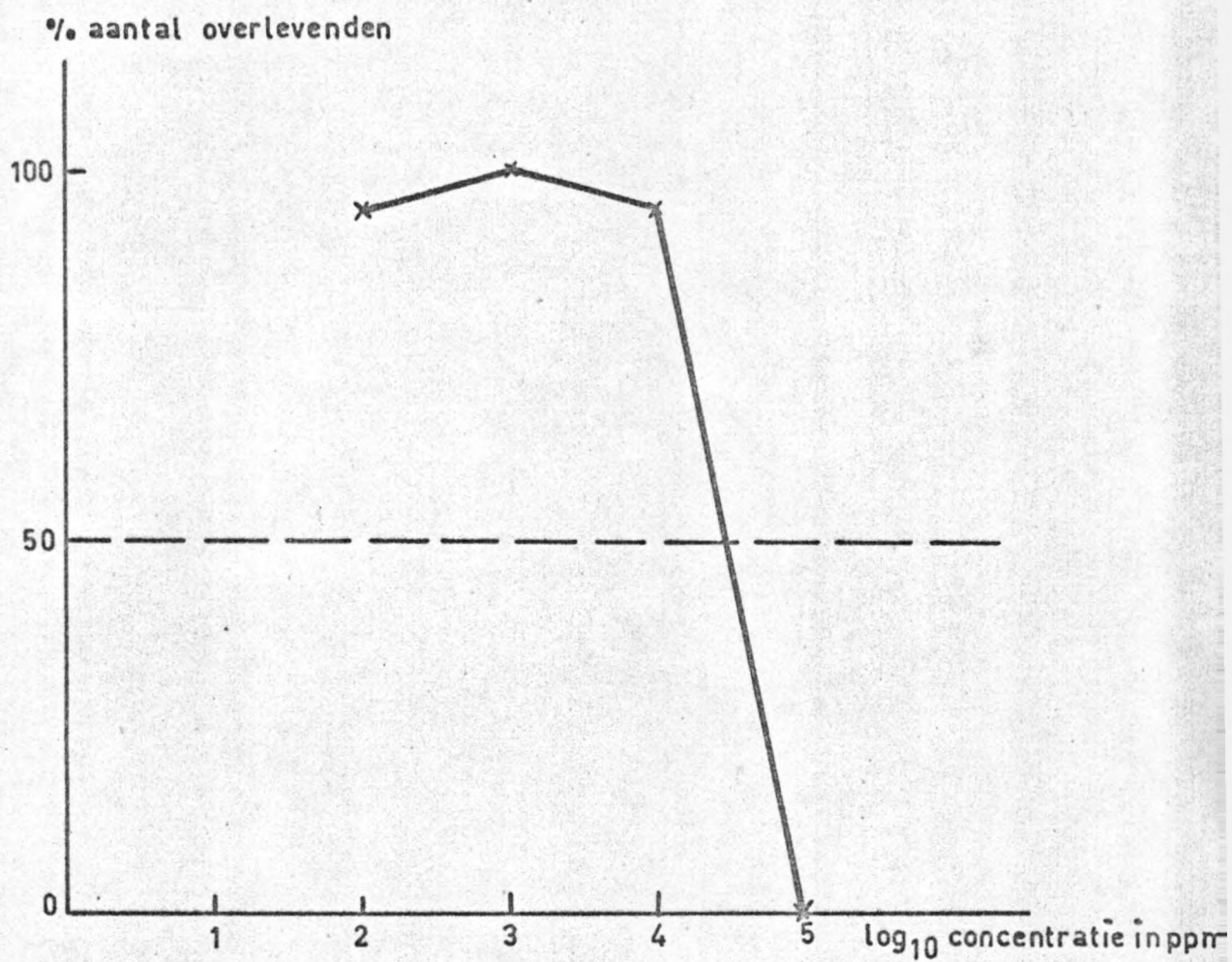
Deze in vitro proeven moeten aangevuld worden met een kontinu monitoringsprogramma in situ met het doel de effecten op lange termijn te kunnen controleren.

Tabel 1 - Temperatuur, zuurtegraad, opgeloste zuurstof (OZ) en saliniteitswaarden tijdens de proeven op Crangon crangon (L) en Mytilus edulis L.

| Toegevoegde hoeveelheden in ppm | °C | pH | S ‰ | OZ |
|------------------------------------|------|-----|------|-------|
| 0 | 12,0 | 8,1 | 32,7 | 8,1 |
| 10.000 | 12,0 | 8,2 | 32,3 | 7,0 |
| 18.000 | 12,0 | 8,2 | 31,9 | 6,2 |
| 32.000 | 12,0 | 8,4 | 31,9 | 5,6 |
| 56.000 | 12,0 | 8,8 | 31,3 | 5,5 |
| 100.000 | 12,0 | 8,9 | 29,8 | < 5,0 |
| 180.000 | 12,0 | 9,0 | 27,1 | < 5,0 |

Tabel 2 - Temperatuur, zuurtegraad, opgeloste zuurstof (OZ) en saliniteitswaarden tijdens de proeven op Pleuronectes platessa L.

| Toegevoegde hoeveelheden in ppm | °C | pH | S ‰ | OZ |
|------------------------------------|------|-----|------|-------|
| 0 | 12,0 | 8,2 | 32,5 | 8,4 |
| 18.000 | 12,0 | 8,2 | 31,6 | 6,4 |
| 32.000 | 12,0 | 8,4 | 31,5 | 5,3 |
| 56.000 | 12,0 | 8,7 | 31,3 | 5,1 |
| 100.000 | 12,0 | 8,9 | 29,9 | < 5,0 |
| 180.000 | 12,0 | 9,1 | 27,0 | < 5,0 |



$$10000 \text{ ppm} < LC_{50}^{24} < 100000 \text{ ppm}$$

Fig.1 - Overlevings-concentratie curve van een LC_{50}^{24} -test
op Crangon crangon (L.)

Fig. 2 - Overlevings-tijd curve van een LC_{50}^{96} test op Crangon crangon (L.)

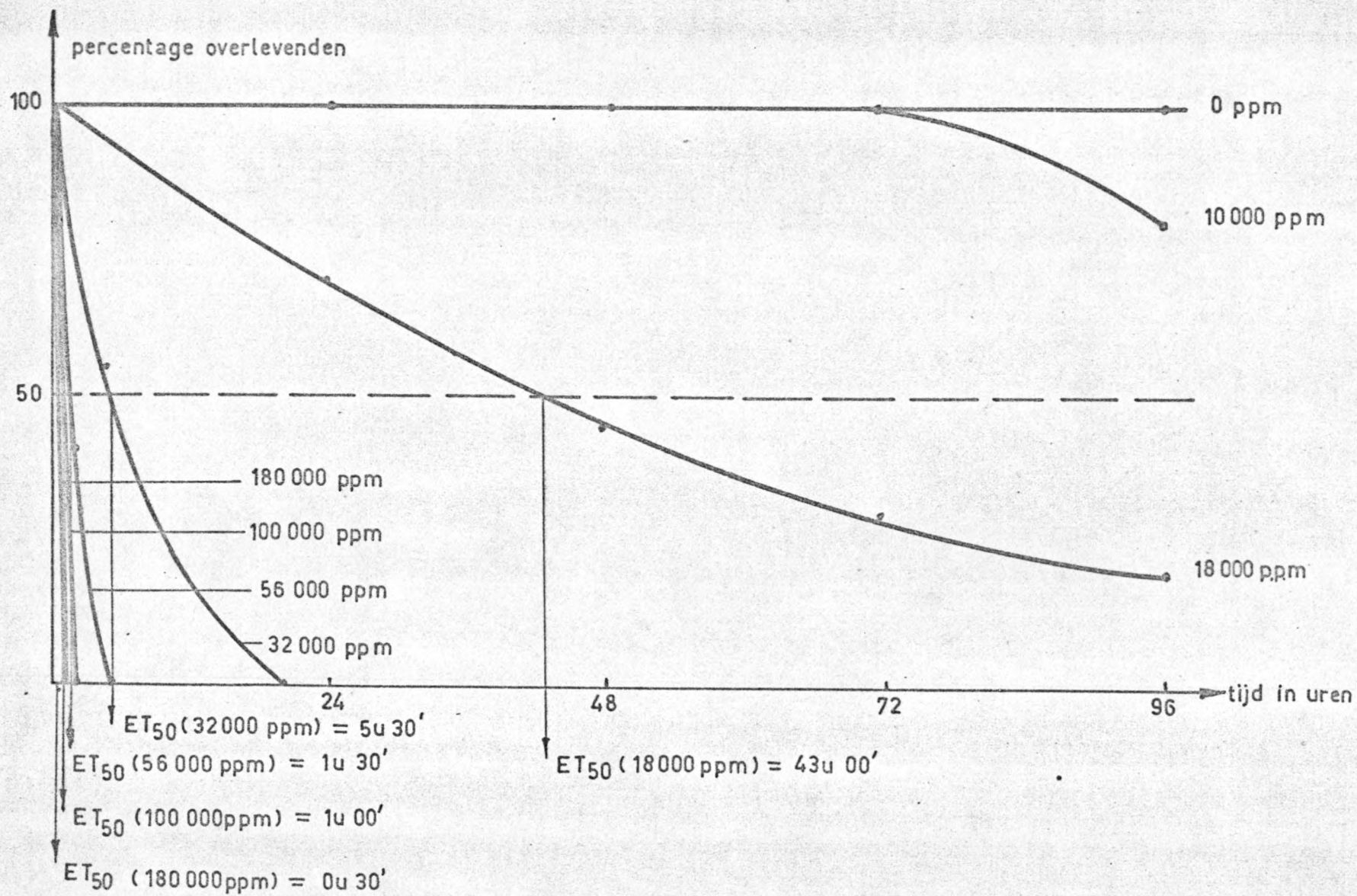
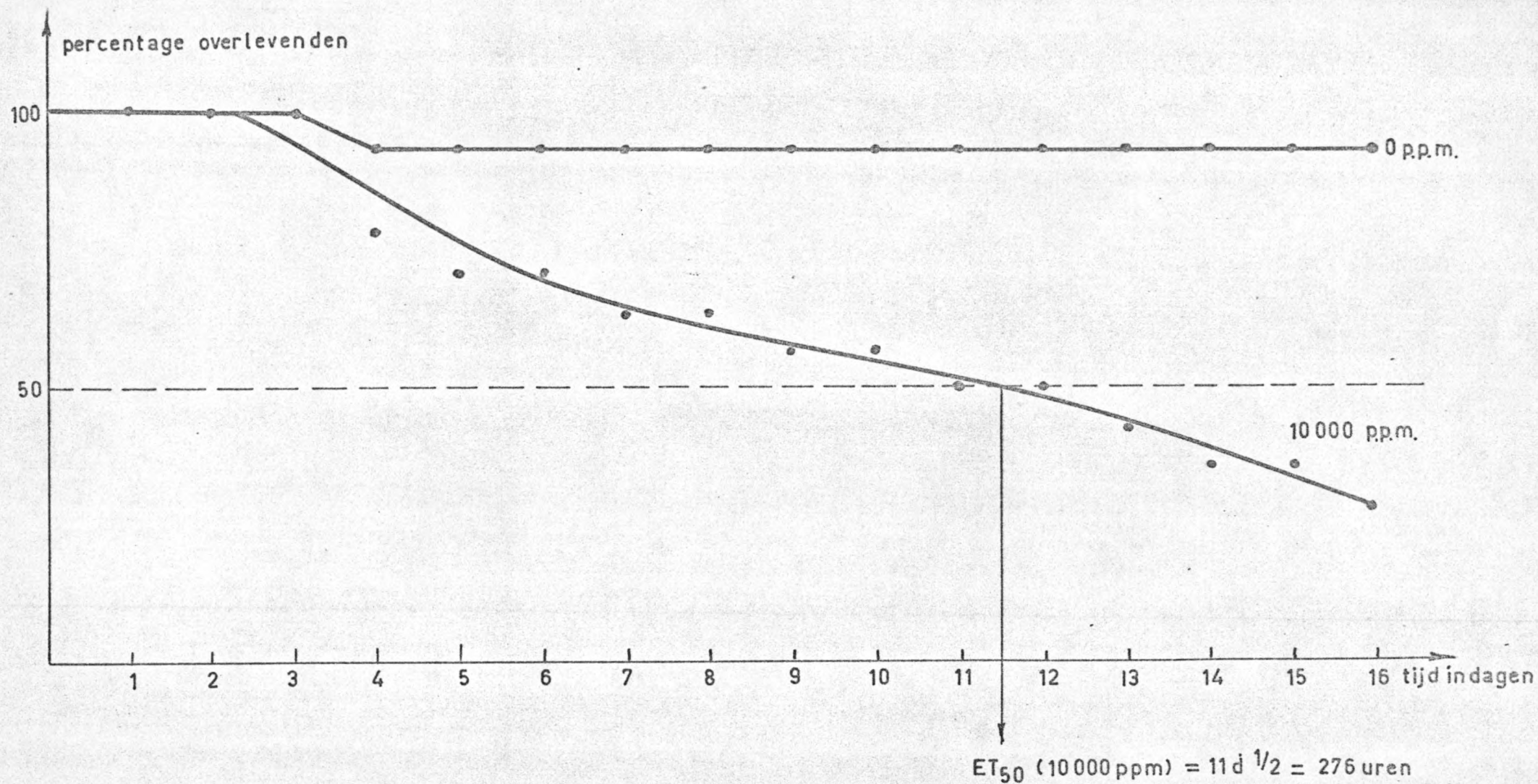


Fig. 3_ Overlevings - tijd curve van een $LC_{50}^{16\text{ dagen}}$ test op Crangon crangon (L)



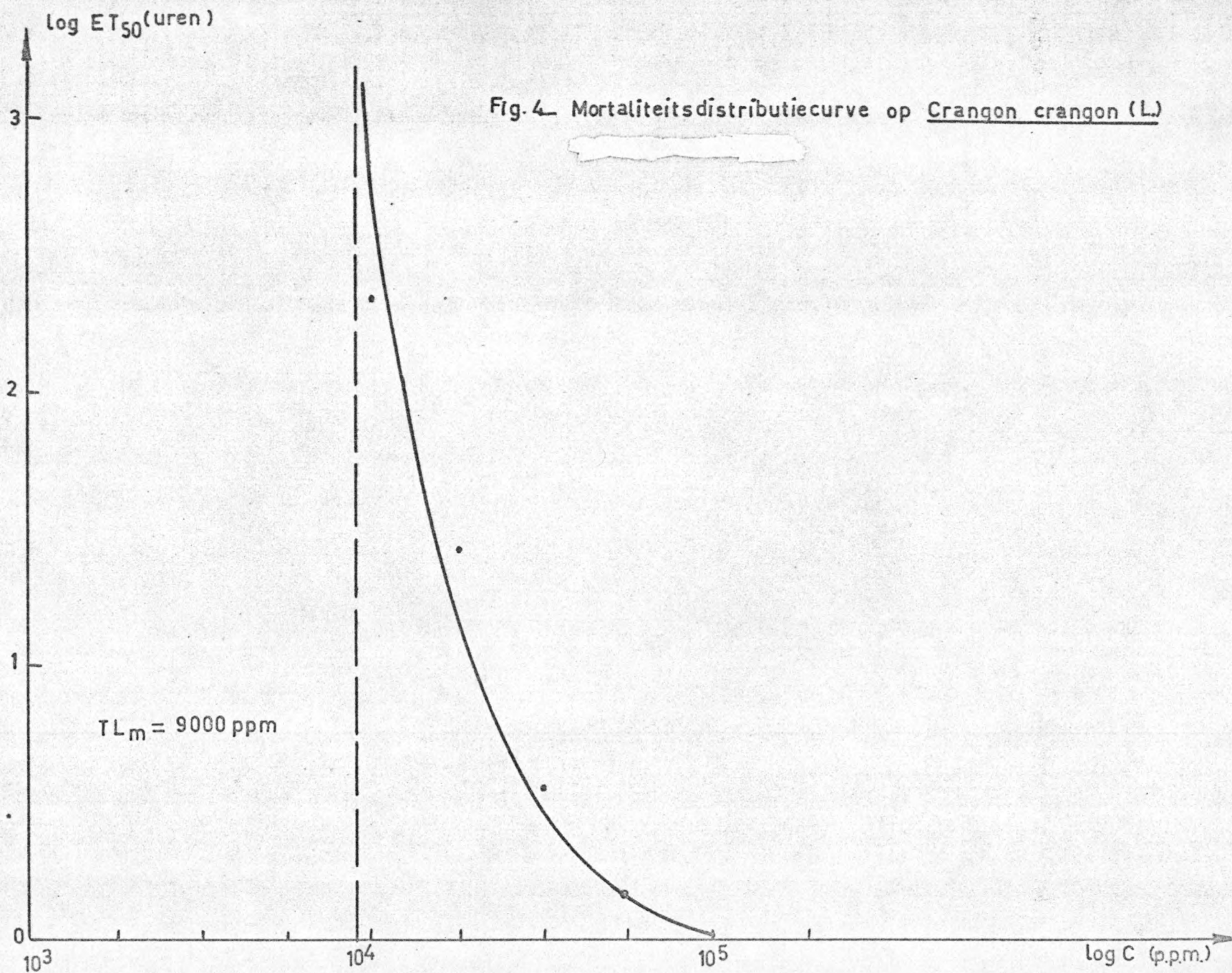


Fig. 5_ Overlevings-tijd curve van een LC_{50}^{96} -test op Pleuronectes platessa L.

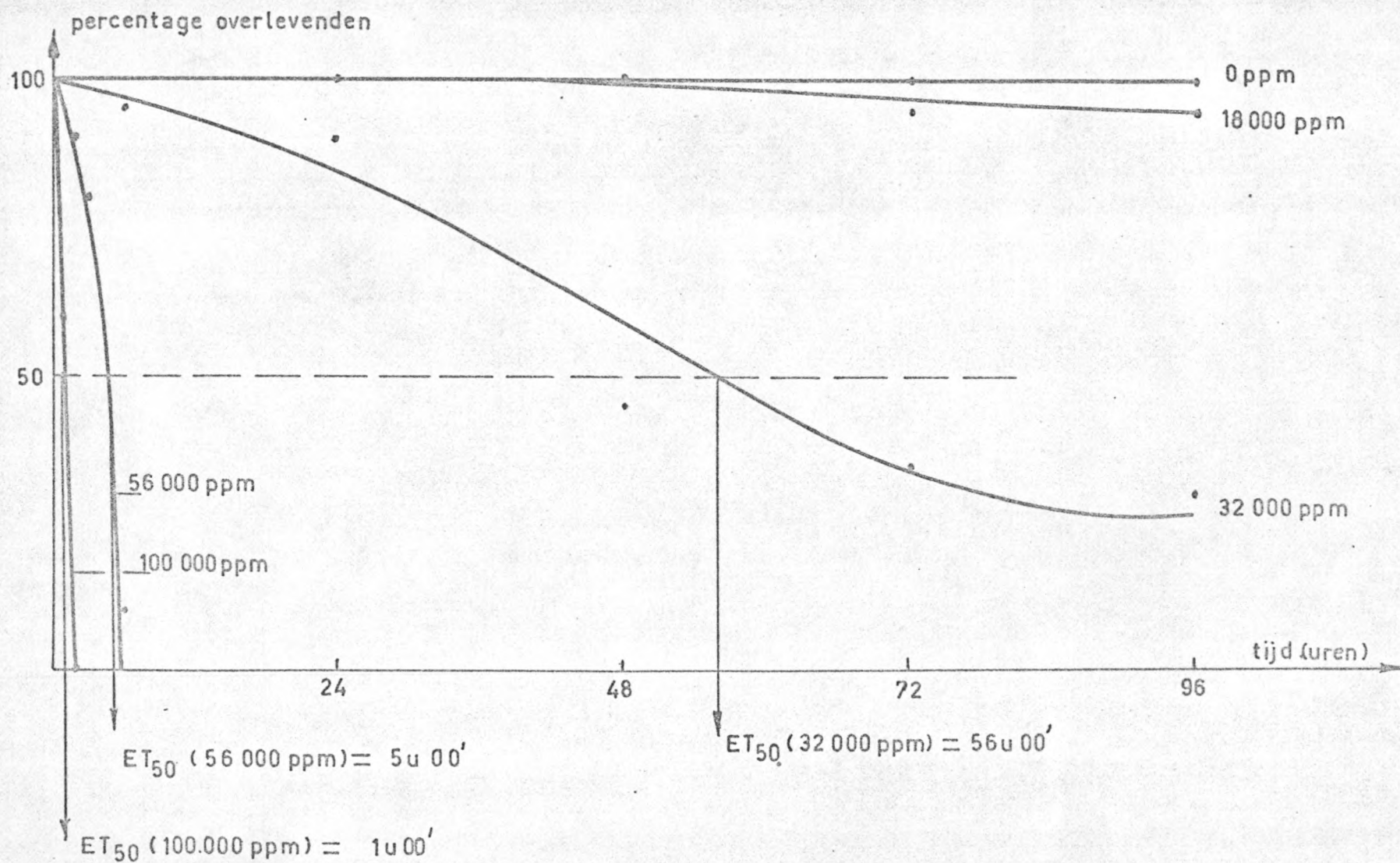
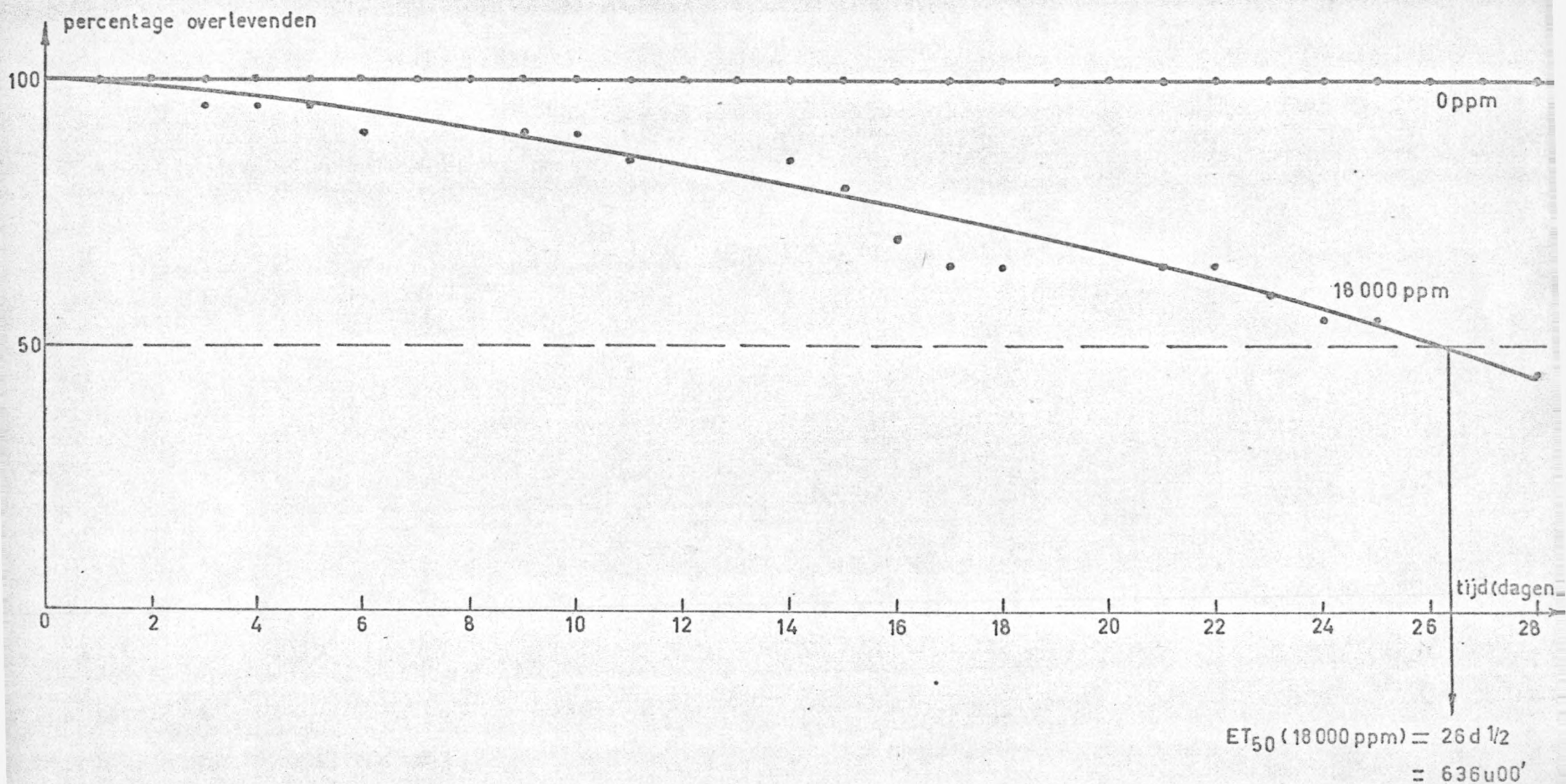


Fig. 6 - Overlevings-tijd curve van een LC₅₀-test gedurende 28 dagen op Pleuronectes platessa L.



log ET₅₀ (uren)

Fig.7 - Mortaliteitsdistributiecure op Pleuronectes platessa L.

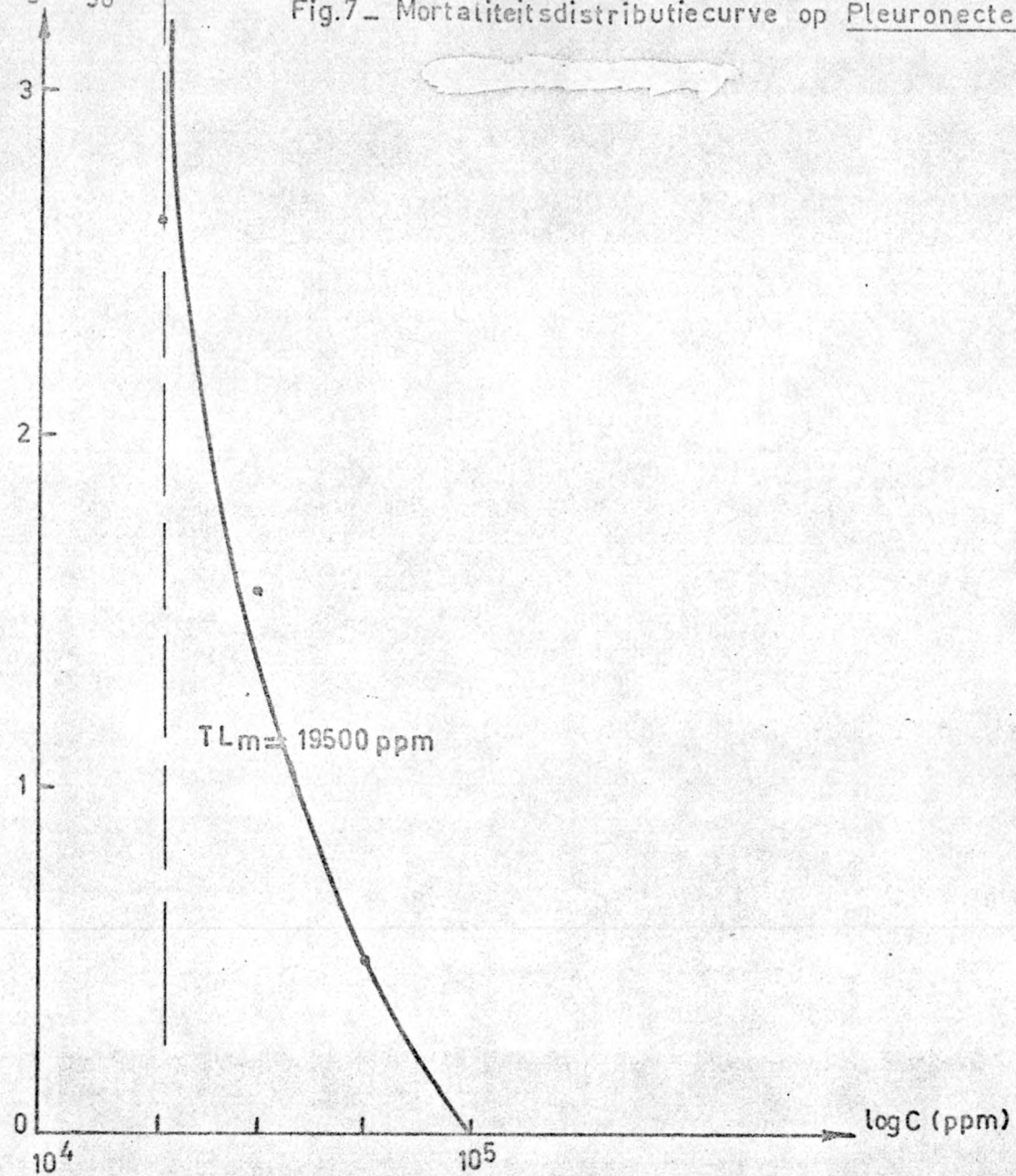


Fig. 8 — Overlevings-tijd curve van een LC_{50}^{96} -test op Mytilus edulis L.

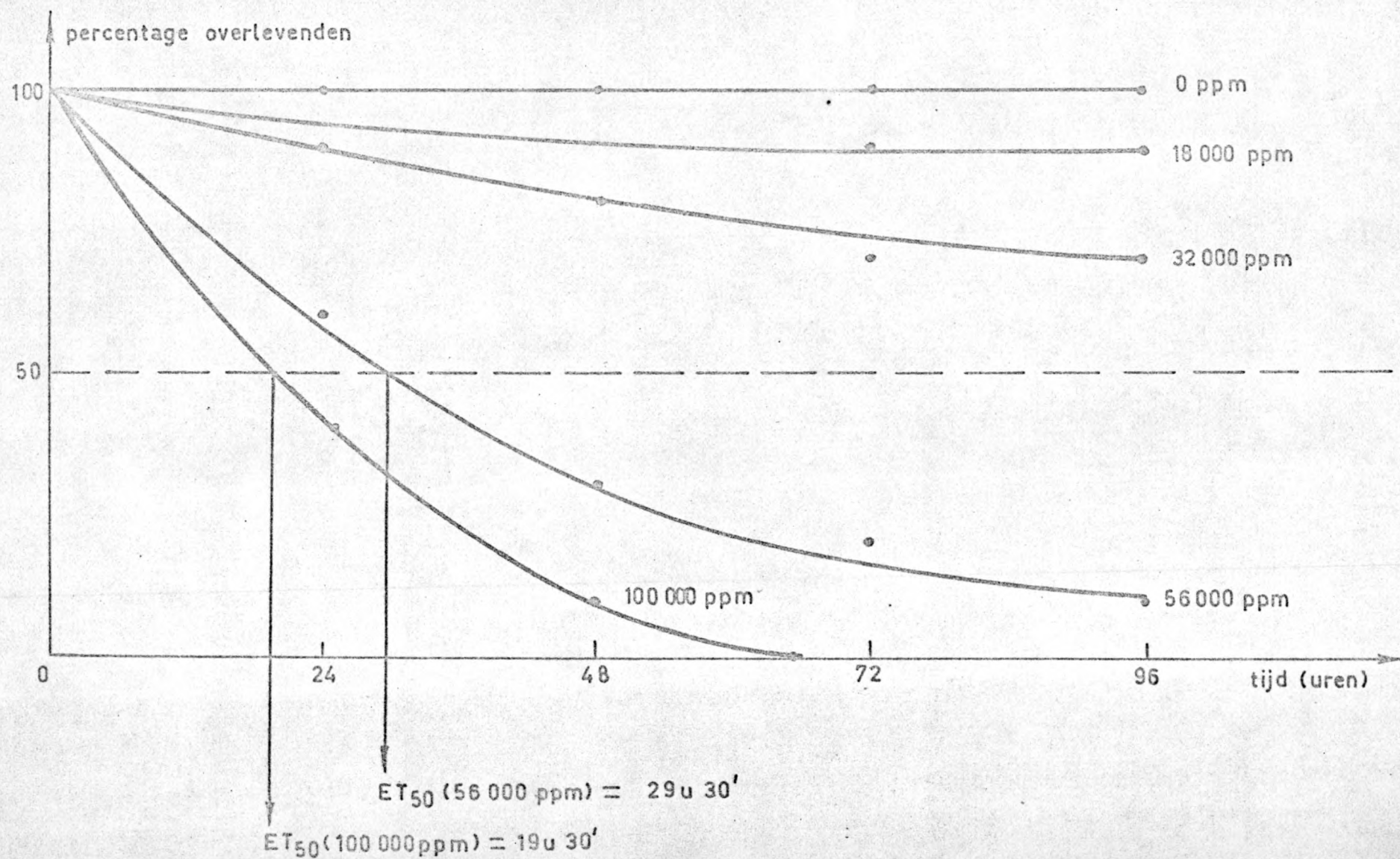
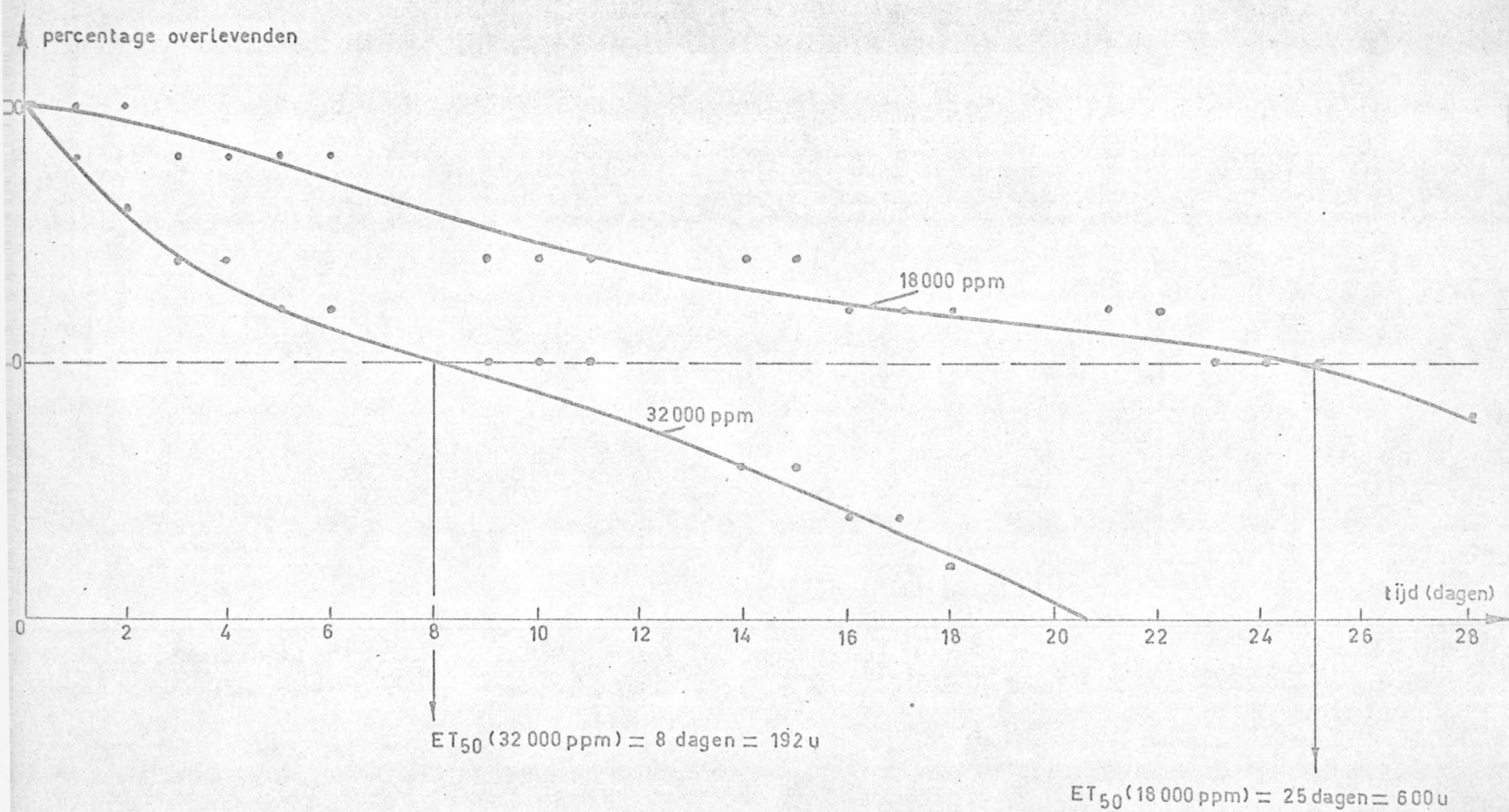
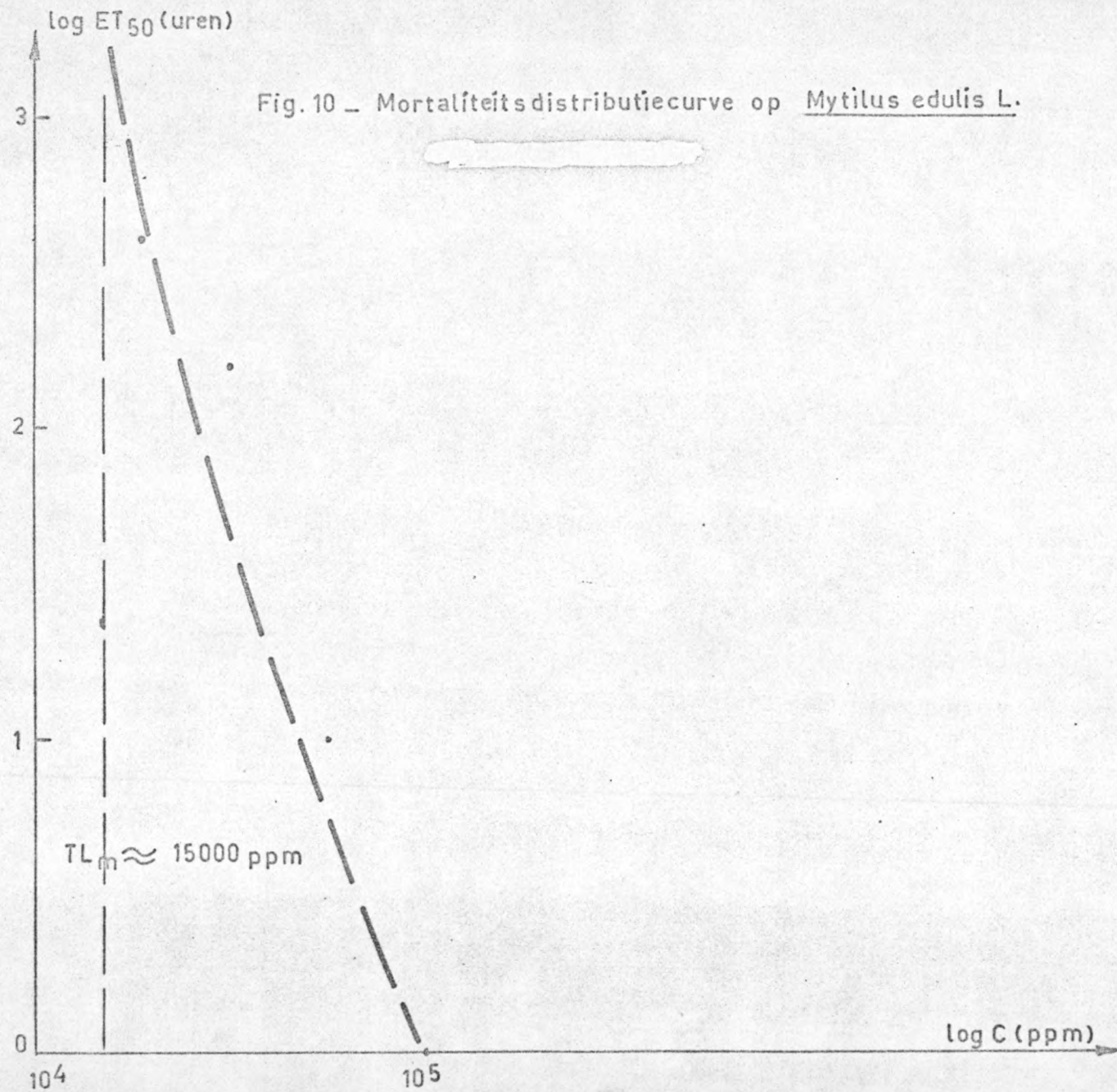


Fig. 9 — Overlevings- tijd curve van een LC₅₀-test gedurende 28 dagen op Mytilus edulis L.





Referenties.

1. Aubert, J. ; Aubert, M. ; Gambarotta, J.P. ; Donnier, B. ; Barelli, M. en Daniel, S. (1969) : Etude générale des pollutions chimiques rejetées en mer. Revue Internationale Océanographie Médicale - Institut national de la santé et de la recherche médicale - Fondation de la ville de Nice.
2. Baeteman, M. (1978) : Onderzoek naar de toxiciteit voor garnalen (Crangon crangon (L)) van afvalstoffen afkomstig van de fabricage van radiografische emulsies. Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (C.L.O. Gent), nr. 147/1978.
3. Hood, D.W. (1962) : Report by industrial waste disposal corporation on evaluation of primary wastes no. DS - 11 - 74 - 5 for deep sea disposal (Texas A & M College).
4. Hood, D.W. ; Duke, T.W. en Stevenson, B. (1960) : Journal WPCF, vol. 32, no. 9, pp. 982-993.
5. Convention pour la prévention de la pollution marine par les opérations d'immersions effectuées par les navires et aéronefs (1978) : Guide pratique pour l'immersion en mer de déchets acides provenant de l'industrie du titane. Commission d'Oslo & London.

